

## (12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2006年1月5日 (05.01.2006)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2006/001092 A1

- (51) 国際特許分類<sup>7</sup>: A61K 45/00, 31/426, A61P 3/10 // C07D 277/26
- (74) 代理人: 水野 昭宣 (MIZUNO,Akinobu); 〒150-0044 東京都渋谷区円山町22番12ライオンズマンション渋谷道玄坂303 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/018986
- (22) 国際出願日: 2004年12月14日 (14.12.2004)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2004-184618 2004年6月23日 (23.06.2004) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 株式会社東京大学TLO (TOUDAI TLO, LTD.) [JP/JP]; 〒113-0033 東京都文京区本郷七丁目3番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 酒井 寿郎 (SAKAI,Juro) [JP/JP]; 〒153-8904 東京都目黒区駒場4丁目6番1号 東京大学先端科学技術研究センター内 Tokyo (JP). 田中 十志也 (TANAKA,Toshiya) [JP/JP]; 〒205-8501 東京都羽村市栄町3丁目4番地3 グレランリサーチセンター内 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:  
— 國際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドノート」を参照。

(54) Title: INSULIN SECRETION PROMOTER

(54) 発明の名称: インスリン分泌促進剤

(57) Abstract: An insulin secretion promoter that alleviates side effects, such as acceleration of obesity and arteriosclerosis, and minimizes any strain on pancreatic  $\beta$  cells so as not to be detrimental to insulin secretion capability. There is provided a promoter of insulin secretion with glucose dependence responsive to high blood sugar, comprising as an active ingredient a substance having the activity of PPAR  $\delta$  activation. This insulin secretion promoter simultaneously exhibits anti-obesity activity, serum cholesterol reducing activity useful for the treatment and prevention of arteriosclerosis, etc. and insulin resistance ameliorating activity.

(57) 要約: 肥満および動脈硬化の促進などの副作用を軽減し、またインスリン分泌能力を損なわないよう臍  $\beta$  細胞にできるだけ負担の少ないインスリン分泌促進剤の提供。PPAR  $\delta$  活性化作用を有する物質を有効成分として含有する、高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進剤は、抗肥満作用、動脈硬化の治療・予防に有用な血清コレステロール低下作用等およびインスリン抵抗性改善作用を合わせてもつ、上記課題を解決したインスリン分泌促進剤である。

## 明 細 書

## インスリン分泌促進剤

技術分野

本発明は、PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を有効成分として含有することを特徴とする高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進剤に関する。

背景技術

ペルオキシソーム増殖物質活性化受容体 $\delta$  (peroxisome proliferator activated receptor $\delta$ ; 本明細書中、「PPAR $\delta$ 」とも言う) は、脂肪酸代謝に関する核内受容体として知られているPPARのサブタイプのひとつで、その発現部位に組織特異性は見られず、普遍的に発現している。PPAR $\delta$ は、PPAR $\beta$ もしくはヒトの場合にはNUC-1とも称されるが、その生理的な機能の研究については、他のPPARのタイプであるPPAR $\alpha$ およびPPAR $\gamma$ に比べて遅れており、最近になって、PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質(以下、「PPAR $\delta$ アゴニスト」ともいう)に関し、それらの薬理活性および医薬用途に関する知見が得られ、開示されている。

例えば、PPAR $\delta$ アゴニストについて、1) 血漿中のHDL量を増加させ、アテローム性冠状動脈硬化症の治療・予防に効果があること、また、HMG-C<sub>o</sub>A還元酵素阻害剤と併用することでアテローム性冠状動脈硬化症の治療・予防に効果があること(特許文献1: WO 97/28149参照)、2) 糖尿病治療薬および抗肥満薬として有用であること(特許文献2: WO 97/28115参照)、3) 血清コレステロール低下作用およびLDL-コレステロール低下作用があること(特許文献3: WO 99/04815参照)、4) HDL

L-コレステロール上昇作用、フィブリノーゲン低下作用、トリグリセリド低下作用およびインスリンレベル低下作用があること、また、異脂肪血症、X症候群（代謝症候群を含む）、心不全、高コレステロール血症、心血管疾患、II型真性糖尿病、I型糖尿病、インスリン抵抗性、高脂血症、肥満症等の予防・治療に有効であること（特許文献4：WO 01/00603参照）などが開示されている。また、PPAR $\delta$ アゴニストは、熱産生亢進作用、ミトコンドリアの脱共役呼吸亢進作用および脂肪酸 $\beta$ 酸化亢進作用等を示し、抗糖尿病剤、抗肥満剤、内臓蓄積脂肪低減化剤および内臓脂肪蓄積抑制剤として有用であることが開示されている（特許文献5：WO 03/08967参照）。さらに、選択的なPPAR $\delta$ アゴニストとして知られているGW501516（化学名：2-{2-メチル-4-[({4-メチル-2-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,3-チアゾール-5-イル}メチル)チオ]フェノキシ}酢酸；特許文献4および非特許文献1：Oliverら、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 98, 5306-5311, 2001 参照）について、高脂肪食誘起の肥満動物において肥満およびインスリン抵抗性の改善作用が認められること、遺伝的な肥満動物において血漿中のグルコースと血中インスリンレベルの低下作用により糖尿病の改善が認められることが報告されている（非特許文献2：Tanakaら、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, vol. 100, 15924-15929, 2003 参照）。

PPAR $\delta$ アゴニストについては、上記したような薬理作用および医薬用途が知られているが、そのインスリンとの係わりでは、上記特許文献4および非特許文献2に開示のインスリン抵抗性改善作用および非高血糖状態の動物におけるインスリンレベル低下作用が開示されているのみで、インスリンの分泌に関する作用は全く知られていない。

一方、インスリンについては、血糖値の上昇に伴い膵 $\beta$ 細胞から分泌されるホルモンで、筋肉および肝臓のタンパク質合成および脂肪組織での糖の取り込みと利用の促進などの作用を有することが知られている。

インスリンが関係する代表的な疾患である糖尿病には、インスリン分泌が不全となったI型糖尿病と、インスリンに対する組織の感受性が低下したII型糖尿病があるが、現在使用されている糖尿病治療剤としては、インスリン製剤（例：ウシ、ブタの臍臓から抽出された動物インスリン製剤；大腸菌またはイーストを用い、遺伝子工学的に合成したヒトインスリン製剤等）、インスリン抵抗性改善剤（例：トログリタゾン、ピオグリタゾン、ロジグリタゾン等）、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤（例：ボグリボース、アルカボース、ミグリトール、エミグリテート等）、ビグアナイド剤（例：フェンホルミン、メトホルミン、ブホルミンなど）およびインスリン分泌促進剤〔スルホニルウレア剤（例：トルブタミド、グリベンクラミド、グリクラジド、クロルプロパミド、トラザミド、アセトヘキサミド、グリクロピラミド、グルメピリド、グリピザイド、グリブゾール等）、レパグリニド、セナグリニド、ナテグリニド、ミチグリニド等〕などが挙げられる。

上記糖尿病治療剤の中で、インスリン抵抗性改善剤は、血中インスリン値が高いにも拘わらず高血糖が続く患者に投与され、インスリンに対する末梢の組織の感受性を上昇させるために使用される。一方、インスリン分泌促進剤は、臍 $\beta$ 細胞を刺激し、インスリン分泌を促進させる薬剤で、両者は作用点において明確に区別されるものである。

【特許文献1】 WO 97/28149

【特許文献2】 WO 97/28115

【特許文献3】 WO 99/04815

【特許文献4】 WO 01/00603

【特許文献5】 WO 03/08967

【非特許文献1】 Oliverら、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 98, pp. 5306-5311, 2001

【非特許文献2】 Tanakaら、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 100,

pp. 15924-15929, 2003

### 発明の開示

現在使用されているインスリン分泌促進剤は、上記したように種類も多く、最も繁用されている糖尿病治療剤であるが、低血糖の他に、肥満および動脈硬化の促進など深刻な副作用が見られており、これらの副作用を軽減し、またインスリン分泌能力を損なわないよう膵 $\beta$ 細胞にできるだけ負担の少ないインスリン分泌促進剤の開発が望まれている。

本発明者らは、上記課題解決のために種々の化合物について試験研究した結果、PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質が、膵 $\beta$ 細胞に直接作用し、高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌を強力に促進することを見出し、さらに検討を続け本発明を完成した。

本発明は、

[1] PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を有効成分として含有することを特徴とする高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進剤、

[2] PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質がPPAR $\delta$ アゴニストから選択されたものであることを特徴とする上記〔1〕記載の剤、

[3] PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質が2-[2-メチル-4-[(4-メチル-2-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,3-チアゾール-5-イル)メチル]チオ]フェノキシ酢酸である上記〔1〕又は〔2〕記載の剤、

[4] PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質の有効量を投与して、高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌を促進せしめることを特徴とする高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進法、及び

[5] PPAR $\delta$ 活性化作用を測定し、PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を選択することを特徴とする、高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進作用を有する物質の選択方法

に関する。

今回本発明者らが見出したPPAR $\delta$ アゴニストのインスリン分泌促進作用は、既に知られているPPAR $\delta$ アゴニストのインスリン抵抗性改善作用とは、前記したように作用点が明確に異なる全く別の薬理作用である。また、既に知られているPPAR $\delta$ アゴニストのインスリンレベル低下作用とは、特許文献4および非特許文献2に開示されているように非高血糖状態の動物で見られた薬理作用であり、これらの既に知られている薬理作用から本発明のPPAR $\delta$ アゴニストのインスリン分泌促進作用を予測することは当業者といえども極めて困難である。

### 発明の効果

本発明は、PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を有効成分として含有する剤であって、従来のインスリン分泌促進剤に副作用として見られる肥満および動脈硬化の促進をむしろ改善するものであって、またインスリン分泌能力を損なわないよう膵 $\beta$ 細胞にできるだけ負担の少ないインスリン分泌促進剤を提供すると共に、それを使用した治療法を提供する。

本発明者らは、試験例に後述したように、PPAR $\delta$ アゴニストとして、PPAR $\delta$ に対して極めて選択性の高いGW501516を使用して本発明の効果、すなわち高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進作用を確認したが、GW501516は、PPAR $\delta$ に対して、極めて低濃度のnMのオーダーで、他の核内受容体であるPPAR $\alpha$ およびPPAR $\gamma$ に対するよりも1,000倍以上の親和性を示す物質であり（非特許文献1および2参照）、本発明の効果は、PPAR $\delta$ 活性化作用に基づくものであることは明確である。

本発明により、肥満および動脈硬化の促進などの副作用を軽減し、またインスリン分泌能力を損なわないよう膵 $\beta$ 細胞にできるだけ負担の少ないインスリン分泌促進剤を提供することが可能となり、高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進剤として適した有効成分の選別技術も提供できる。そして、PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を有効成分と

して含有する、高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進剤を使用して、抗肥満作用を有し、動脈硬化の治療・予防に有用な血清コレステロール低下作用等と共にインスリン抵抗性改善作用を合わせてもつ、医薬を開発でき、当該課題を解決することが可能となる。

本発明のその他の目的、特徴、優秀性及びその有する観点は、以下の記載より当業者にとって明白であろう。しかしながら、以下の記載及び具体的な実施例等の記載を含めた本件明細書の記載は本発明の好ましい態様を示すものであり、説明のためにのみ示されているものであることを理解されたい。本明細書に開示した本発明の意図及び範囲内で、種々の変化及び／又は改変（あるいは修飾）をなすことは、以下の記載及び本明細書のその他の部分からの知識により、当業者には容易に明らかであろう。本明細書で引用されている全ての特許文献及び参考文献は、説明の目的で引用されているもので、それらは本明細書の一部としてその内容はここに含めて解釈されるべきものである。

#### 図面の簡単な説明

図1は、グルコース刺激時の臍β細胞からのインスリン分泌促進活性を試験して調べた結果を示す。GWはGW501516を示し、DMSOはジメチルスルホキシドで、Gはグルコースを表す。

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明は、

- 1) PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を有効成分として含有することを特徴とする高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進剤；および
- 2) PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質が2-[2-メチル-4-[4-メチル-2-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,3-チアゾール-5-イル]メチル]チオ]フェノキシ]酢酸であることを特徴とす

る上記1)に記載の剤  
を提供する。

上記のPPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質は、PPAR $\delta$ に対するアゴニストであればよい。PPAR $\delta$ アゴニストは、例えばin vitroで、3mM以下の濃度で明確なPPAR $\delta$ 活性化作用を発現する物質が好ましい。

上記PPAR $\delta$ 活性化作用の測定には、公知の方法およびその改良法を用いることができる。具体的には、例えば、酵母のGAL4蛋白のDNA結合能を利用したレポーターシステムを用いる方法(J. Biol. Chem., 270, p12953-12956, 1995)、PPARのDNA結合領域(peroxisome proliferator responsive element, PPRE)を利用したレポーターシステムを用いる方法(Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 91, p7355-7359, 1994; Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 94, p4312-4317, 1997; J. Biol. Chem., 268(8), p5530-5534, 1993)およびバクテリアテトラサイクリンオペロンを利用したレポーターシステムを用いる方法(J. Biol. Chem., 270(41), p23975-23983, 1995)などを利用することができ、これらの改良法も利用することができる。

上記PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質の好適な例としては公知のPPAR $\delta$ アゴニストが挙げられるが、具体的には、2-{2-メチル-4-[[(4-メチル-2-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,3-チアゾール-5-イル)メチル]チオ]フェノキシ}酢酸(Glaxo, GW501516; WO 01/00603、J. Org. Chem., 63, p9116-9118, 2003)、carbaprostanacyclin(cPGI)、L-165041(WO 97/28115、J. Biol. Chem., 274, p6718-6788, 1999)、YM-16638(WO 99/04815)等が挙げられる。このほか、前記した特許文献1~5(WO 97/28149、WO 97/28115、WO 99/04815、WO 01/00603、WO 03/08967)に記載され上記に好適な例として挙げた物質以外のもの、特開2001-354671号に記載の物質(ベンズイソキサゾール誘導体等)および特開2003-171275号に記載の物質(ピロール誘

導体) も PPAR $\delta$  活性化作用を有する物質の好適な例として挙げられ、これらの中で *in vitro* で、3mM 以下の濃度で PPAR $\delta$  活性化作用を示すものが本発明に好ましく使用される。

本発明用の特に好ましい PPAR $\delta$  活性化作用を有する物質としては、特異的に PPAR $\delta$  を活性化する作用を有するものであり、なかでも好ましいものとしては PPAR のうちの PPAR $\alpha$  や PPAR $\gamma$  に対して実質的に活性化作用を示さないものが挙げられる。例えば、酵母の転写因子 GAL4 とのキメラタンパク質を用いたリガンドアッセイにおいて 1 $\mu$ M 以下では、PPAR $\delta$  を活性化する作用を有する一方で、PPAR $\alpha$  や PPAR $\gamma$  に対して実質的に活性化を示さないものが挙げられる。

上記の高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進剤とは、食事等による高血糖状態に反応した、血中グルコース濃度の上昇に応じたインスリン分泌を促進する薬剤をいい、本発明のインスリン分泌促進剤が、高グルコース刺激に反応して脾 $\beta$  細胞からのインスリン分泌を促進するものであることは、後述の試験例から明らかである。

本発明は、上記の PPAR $\delta$  活性化作用を有する物質を有効成分として含有することを特徴とする高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進剤を提供するが、さらに、PPAR $\delta$  活性化作用を測定し、PPAR $\delta$  活性化作用を有する物質を選択することを特徴とする、高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進作用を有する物質の選択方法も提供するものであり、インスリン分泌促進作用を有する物質をスクリーニングし選択する上で極めて有用である。

本発明のインスリン分泌促進剤は、糖尿病、メタボリックシンドローム、クッシング症候群、サイアザイド系降下症、悪性高血圧症、火傷、外傷、巨人症、狭心症、甲状腺機能亢進症、骨折、手術、情緒的ストレス、心筋梗塞、代謝性疾患、中枢神経系疾患、内分泌性疾患、妊娠、脳腫瘍、くも膜下出血、副腎髓質腫瘍、末端肥大症、脾疾患等により高血糖の症状が見られる、あるいは下垂体機能低下や副腎不全によりインスリン分泌機能

低下が見られるインスリン分泌促進剤が必要な患者に使用される。

本発明のインスリン分泌促進剤は、投与対象、投与ルート、対象疾患、体重、症状などによっても異なるが、例えば、成人のインスリン分泌促進剤が必要な糖尿病患者に経口投与する場合、有効成分である P P A R  $\delta$  活性化作用を有する物質を、通常1回量として約 0.01～800 mg、好ましくは 0.1～500 mg、さらに好ましくは 0.5～300 mg であり、この量を1日1～3回投与するのが好ましい。

本発明のインスリン分泌促進剤は、経口、口腔内、吸入、経鼻、経粘膜、直腸および注射等の投与経路で投与されるが、有効成分である P P A R  $\delta$  活性化作用を有する物質に適当な製剤添加物を使用し製剤化することができる。当該製剤添加物としては、上記投与経路に適した剤型の医薬品を製造する上で通常使用される添加剤が挙げられ、例えば、第14改正日本薬局方（以下、「局方」ともいう）および「医薬品添加物事典」（薬事日報社、1994年1月14日発行）に収載されている賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、コーティング剤、湿潤剤、溶剤、基剤、懸濁化剤、乳化剤、溶解補助剤、保存剤、安定剤などから錠剤、顆粒剤、散剤、硬カプセル剤、軟カプセル剤、トローチ剤、ドライシロップ剤、シロップ剤、液剤、懸濁剤、注射剤、エアゾール剤および坐剤などに適したもののが選択される。

当該製剤添加物の具体的な物質としては、デンプン、コーンスター、結晶セルロース、乳糖、白糖、ブドウ糖、マンニトール、ソルビトール、ゼラチン、寒天、アラビアゴム、ヒドロキシプロピルセルロース、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、水素添加植物油、マクロゴール、グリセリン、注射用水、アルギン酸、ポリソルベート、レシ

チンなどが挙げられる。

本発明のインスリン分泌促進剤は、例えば、局方に記載の錠剤、顆粒剤、散剤、硬カプセル剤、軟カプセル剤、トローチ剤、ドライシロップ剤、シロップ剤、液剤、懸濁剤、注射剤、エゾール剤および坐剤の製造法に従って製造することができる。

本発明のインスリン分泌促進剤は、PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を有効成分としており、PPAR $\delta$ アゴニストについては、前記したように既に抗肥満作用があること、および動脈硬化の治療・予防に有用な血清コレステロール低下作用、LDL-コレステロール低下作用およびHDL-コレステロール上昇作用等があることが示されていることから、従来のインスリン分泌促進剤の深刻な副作用となっている肥満および動脈硬化を引き起こす危険性が低く、患者にとって極めて有用性の高いインスリン分泌促進剤として利用できるものである。また、PPAR $\delta$ アゴニストについては、前記したように既に末梢の脂肪細胞や骨格筋のインスリン抵抗性を改善する作用が認められており、このことは、高血糖に反応してPPA R $\delta$ アゴニストによって膵 $\beta$ 細胞から分泌促進されたインスリンが脂肪細胞において効率よく使用され、膵 $\beta$ 細胞に負担をかけずにインスリン分泌が行われることを示している。したがって、本発明のPPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を有効成分とするインスリン分泌促進剤は、従来のインスリン分泌促進剤に見られる肥満および動脈硬化の副作用の危険性を減らし、さらに、膵 $\beta$ 細胞のインスリン分泌能力を保護可能な、患者にとって極めて有用性の高いインスリン分泌促進剤を与えるものである。

### 実施例等

以下に試験例および実施例を掲げ、本発明を具体的に説明するが、この実施例は単に本発明の説明のため、その具体的な態様の参考のために提供されているものである。これらの例示は本発明の特定の具体的な態様を説明するためのものであるが、本願で開示する発明の範囲を限定したり、あるいは制限することを表すものではない。本発明では、本明細書の思想に基づく様々な実施形態が可能であることは理解されるべきである。

全ての試験例および実施例は、他に詳細に記載するもの以外は、標準的な技術を用いて実施したもの、又は実施することのできるものであり、これは当業者にとり周知で慣用的なものである。なお、以下の試験例および実施例において、特に指摘が無い場合には、具体的な操作並びに処理条件などは、市販の試薬あるいはキットを用いている場合はそれらに添付の指示書(protocols) や添付の薬品等を使用している。

#### [試験例] グルコース刺激のインスリン分泌作用

##### 1) 試験法

試験化合物として使用したGW501516、すなわち (2-{2-メチル-4-[(4-メチル-2-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,3-チアゾール-5-イル]メチル}チオ]フェノキシ) 酢酸) は、WO 01/00603の実施例65および66に準じて合成したものを用いた。

6週齢の雄性C57BL/6Jマウスおよび $\text{Lepr}^{\text{db}}/\text{Lepr}^{\text{db}}$ マウスを日本クレアより購入し、室温25°C、湿度60±10%、明暗サイクル12時間（明期 08:00 ~ 20:00）の条件下にて飼育した。動物は1週間馴化した後、実験に供した。飼料として固型CE-2（日本クレア）を用い、飲水とともに自由摂取とした。

雄性C57BL/6Jマウスおよび $\text{Lepr}^{\text{db}}/\text{Lepr}^{\text{db}}$ マウスを用い、ネンブタール麻酔下にて総胆管十二指腸開口部をクレンメで挟み、肝臓側の総胆管より1 mg/mLのコラゲナーゼ（和光純薬工業）を注入した後、脾臓を摘出した。37°Cにて13分間インキュベートした後、Hank's balanced salt溶液を加

え振とうした後、遠心して上清を除去した。再度Hank's balanced salt溶液にて懸濁した後濾過し、Hank's balanced salt溶液を加え35 mLとして混和した後5分間静置した。アスピレーターにて5 mLの溶液を残して上清を除去し再度Hank's balanced salt溶液を加え35 mLとして混和した。この操作を12回繰り返した後、顕微鏡下にてランゲルハンス島を採取した。DMSO (0.1%)、10または100 nMのGW501516 (終濃度) を添加した10%ウシ胎児血清 (FBS, Sigma)、100 units/mLペニシリングナトリウムおよび100 μg/mL硫酸ストレプトマイシン含有 (GIBCO) のRPMI1640 (GIBCO) にて24時間培養した。2.8 mMグルコース含有Krebs-Ringer bicarbonate buffer (KRBB, 119 mM NaCl, 4.74 mM KCl, 2.54 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.19 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.19 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 mM NaHCO<sub>3</sub>, 10 mM HEPES pH 7.4) にて37°C、1時間インキュベートした後、1ウェルあたり10個のランゲルハンス島を24ウェルプレートに取り、2.8, 5.6あるいは16.7 mMグルコース含有KRBBにて37°C、1時間インキュベートした。上清を回収し、ラットインスリン [<sup>125</sup>I] Biotrakアッセイシステム (Amersham) にて上清中に含まれるインスリンを測定した。

## 2) 結果

図1に示したとおり、GW501516処理群ではC57BL/6JおよびLepr<sup>db</sup>/Lepr<sup>db</sup>マウスいずれにおいても16.7 mMのグルコース刺激により顕著なインスリン分泌作用が認められ、GW501516は高グルコース刺激時の膵β細胞からのインスリン分泌を用量依存的に増加させた。

### 実施例1

錠剤1錠中の処方例 (全量 100mg) : 2-{2-メチル-4-[({4-メチル-2-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,3-チアゾール-5-イル}メチル)チオ]フェノキシ}酢酸 5mg、結晶セルロース 70mg、トウモロコシデンプン 23mg、ステアリン酸マグネシウム 2mg

上記処方について、局方製剤総則記載の公知方法に従って、錠剤を製し

た。

#### 産業上の利用可能性

本発明は、PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を用いて、該物質の示す高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進活性を利用した医薬並びに治療法開発に利用できる技術である。本発明で、肥満および動脈硬化の促進などの副作用を軽減し、またインスリン分泌能力を損なわぬよう膵 $\beta$ 細胞にできるだけ負担の少ないインスリン分泌促進剤が提供できる。PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を有効成分として含有する、高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進剤は、抗肥満作用、動脈硬化の治療・予防に有用な血清コレステロール低下作用等およびインスリン抵抗性改善作用を合わせてもつことが期待できて、糖尿病コントロール・治療技術の発展・開発に役立つと考えられる。

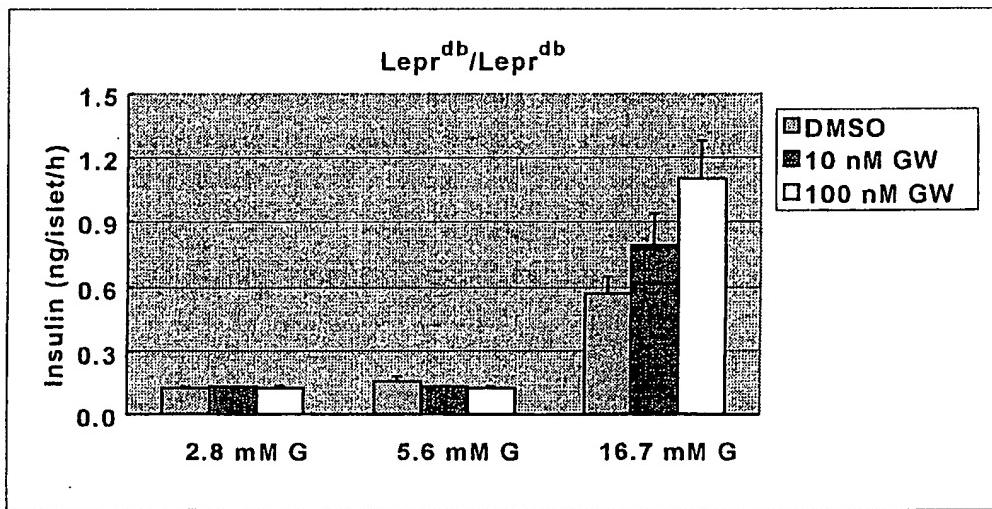
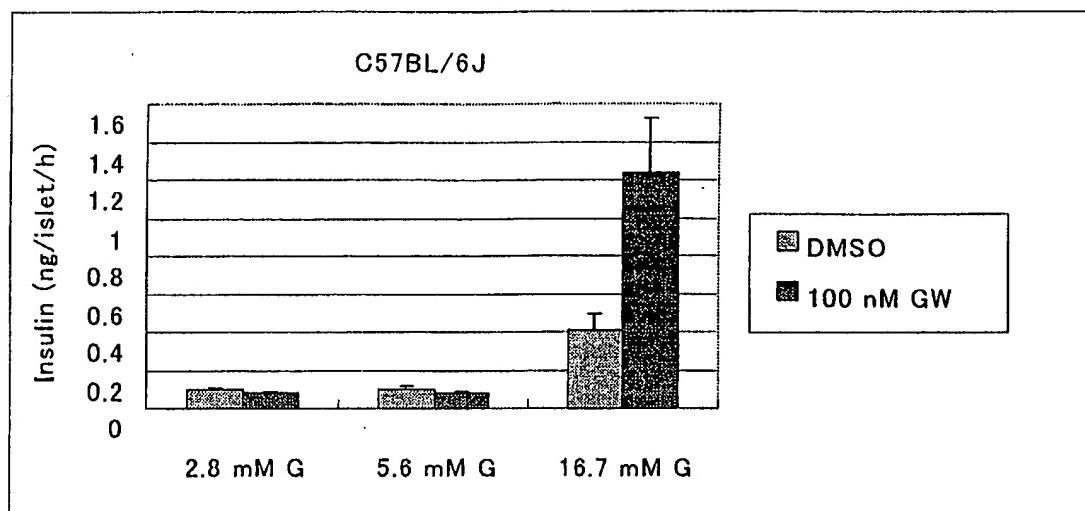
本発明は、前述の説明及び実施例に特に記載した以外も、実行できることは明らかである。上述の教示に鑑みて、本発明の多くの改変及び変形が可能であり、従ってそれらも本件添付の請求の範囲の範囲内のものである

。

## 請 求 の 範 囲

1. PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を有効成分として含有することを特徴とする高血糖に反応したグルコース依存性インスリン分泌促進剤。
2. PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質が2-{2-メチル-4-[({4-メチル-2-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,3-チアゾール-5-イル}メチル)チオ]フェノキシ}酢酸であることを特徴とする請求項1記載の剤。
3. PPAR $\delta$ 活性化作用を測定し、PPAR $\delta$ 活性化作用を有する物質を選択することを特徴とする、高血糖に反応したグルコース依存性のインスリン分泌促進作用を有する物質の選択方法。

1/1



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2004/018986

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
Int.Cl<sup>7</sup> A61K45/00, 31/426, A61P3/10//C07D277/26

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>7</sup> A61K45/00, 31/426, A61P3/10//C07D277/26

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
REGISTRY/MEDLINE/CAPLUS/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPLUS (JOIS)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TANAKA T. et al., 'Activation of peroxisome proliferators-activated receptor delta induces fatty acid beta-oxidation in skeletal muscle and attenuates metabolic syndrome.', Proc.Natl. Acad.Sci., USA, 23 December, 2003 (23.12.03); 100(26); 15924-9, Epub, 15 December, 2003 (15.12.03)	1-3
A	Sugden MC. et al., 'Potential role of peroxisome proliferators-activated receptor-alpha in the modulation of glucose-stimulated insulin secretion.', Diabetes. 2004 February; 53, Suppl. 1; S71-81.	1-3

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
22 February, 2005 (22.02.05)

Date of mailing of the international search report  
08 March, 2005 (08.03.05)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Faxsimile No.

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2004/018986

**C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Lupi R. et al., 'Rosiglitazone prevents the impairment of human islet function induced by fatty acids: evidence for a role of PPAR gamma 2 in the modulation of insulin secretion.', Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab. 2004, April; 286(4); E560-7, Epub, 18 November, 2003 (18.11.03)	1-3

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2004/018986

**<Subject of search>**

Claim 1 relates to a glucose-dependent insulin secretion promoter comprising as an active ingredient a compound defined by the desired quality of "substance having the activity of PPAR $\delta$  activation". Although claim 1 covers all compounds with such quality, only some of the claimed compounds are disclosed within the meaning of PCT Article 5. Thus, it appears that support by the disclosure in the description within the meaning of PCT Article 6 is lacked.

Further, with respect to the "substance having the activity of PPAR $\delta$  activation", the scope of compounds having the activity cannot be specified even if technical common knowledge at the time of filing of this application is taken into account. Thus, the claim 1 also fails to satisfy the requirement of clarity within the meaning of PCT Article 6.

Therefore, search has been carried out on the relationship between PPAR $\delta$  and insulin secretion, and over glucose-dependent insulin secretion promoters comprising compounds concretely described in the description and specified in claim 2 as an active ingredient. With respect to the claim 2, complete search has been carried out.

## A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int. C1' A61K45/00, 31/426, A61P3/10//C07D277/26

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int. C1' A61K45/00, 31/426, A61P3/10//C07D277/26

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

REGISTRY/MEDLINE/CAPLUS/EMBASE/BIOSIS(STN) JSTPLUS(JOIS)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Tanaka T et al., 'Activation of peroxisome proliferator-activated receptor delta induces fatty acid beta-oxidation in skeletal muscle and attenuates metabolic syndrome.' Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Dec 23;100(26): 15924-9. Epub 2003 Dec 15.	1-3
A	Sugden MC et al., 'Potential role of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in the modulation of glucose-stimulated insulin secretion.' Diabetes. 2004 Feb;53 Suppl 1:S71-81.	1-3

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「I」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

## 国際調査を完了した日

22. 02. 2005

## 国際調査報告の発送日

08. 3. 2005

## 国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

## 特許庁審査官(権限のある職員)

川口 裕美子

4C 9829

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Lupi R et al., 'Rosiglitazone prevents the impairment of human islet function induced by fatty acids: evidence for a role of PPARgamma2 in the modulation of insulin secretion.' Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004 Apr;286(4):E560-7. Epub 2003 Nov 18.	1 - 3

## &lt;調査の対象について&gt;

請求の範囲1は、「PPAR δ活性化作用を有する物質」という所望の性質により定義された化合物を有効成分とするグルコース依存性インスリン分泌促進剤に関するものである。そして、請求の範囲1は、そのような性質を有するあらゆる化合物を包含するものであるが、PCT第5条の意味において開示されているのは、クレームされた化合物のごくわずかな部分にすぎず、PCT第6条の意味での明細書の開示による裏付けを欠くものと認められる。

また、「PPAR δ活性化作用を有する物質」は、出願時の技術常識を勘案してもそのような性質を有する化合物の範囲を特定できないから、クレーム1は、PCT第6条における明確性の要件も欠いている。

よって、調査は、PPAR δとインスリン分泌との関係について、及び、明細書に具体的に記載され、請求の範囲2に特定されている化合物を有効成分とするグルコース依存性インスリン分泌促進剤について行った。また、請求の範囲2については、完全な調査を行った。